

Aus der Frauen- und Poliklinik der Freien Universität Berlin
(Städtische Frauenklinik Charlottenburg)
Direktor: Professor Dr. med. Herbert Lax

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR
PLAZENTAPASSAGE DES
PROTEINASEN – INHIBITORS TRASYLOL

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Dobbeck

aus Kurtschlag/Templin

1971

Aus der Frauen- und Poliklinik der Freien Universität Berlin

(Städtische Frauenklinik Charlottenburg)

Direktor: Professor Dr. med. Herbert Lax

Experimentelle Untersuchungen zur Plazentapassage des
Proteinasen - Inhibitors Trasylol

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Dobbeck

aus Kurtschlag/Templin

Referent: Professor Dr. med. Hartmut Hoffbauer

Korreferent: Professor Dr. med. Horst Günther Lents



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 28. Januar 1971

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I. Einleitung	4
II. Vorbemerkungen aus der Literatur	
A. Biochemie und Pharmakologie des Proteinasen-Inhibitors Trasylol	6
B. Physiologie der Fibrinolyse	7
C. Fibrinolyse in vitro	8
III. Untersuchungen	
A. Vorgehen	11
B. Auswahl der Versuchspersonen	13
C. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	15
D. Methodik der Blutuntersuchungen	16
E. Leistungsfähigkeit des Fibrinplattentests	23
IV. Untersuchungsergebnisse	
A. Voruntersuchungen	
1,1. Ergebnisse beim Erwachsenen	27
1,2. Ergebnisse im Nabelschnurblut	29
B. Hauptuntersuchungen	
2,1. Untersuchungsgruppe ohne Trasylol	31
2,2. Untersuchungsgruppe mit intravenöser Injektion von 100 000 KIE Trasylol bei der Mutter	35
2,3. Untersuchungsgruppe mit intravenöser Injektion von 500 000 KIE Trasylol bei der Mutter	37
C. Nebentbefunde	38

	Seite
V. Diskussion der Ergebnisse	
A. Voruntersuchungen	
1,1. Trasylol bei nicht schwangeren Frauen	42
1,2. Trasylol im Nabelschnurblut	43
B. Hauptuntersuchungen	
1. Zur Plazentapassage von Trasylol	44
2. Trasyloleffekt bei asphyktischen Kindern	46
3. Dosierung	48
VI. Zusammenfassung	50
VII. Literaturverzeichnis	52

I. EINLEITUNG

Die Frage der Plazentapassage des Proteinase-Inhibitors Trasylol bei schwangeren Frauen unter der Geburt ist umstritten.

Während BELLER (9) und seine Arbeitsgruppe (10,11) einen diaplazentaren Übertritt von Trasylol in biologisch wirksamer Konzentration verneinen, ist es LUDWIG (39) im Tierexperiment gelungen, nach Trasylolapplikation beim Muttertier, Trasylol im Nabelschnurblut der Feten nachzuweisen. Ebenso fand er Anzeichen eines Hemmeffektes auf die Entstehung der fetalen cerebralen Asphyxieblutungen, die durch Drosselung der Nabelschnurdurchblutung hervorgerufen wurden. Da die Asphyxie eine Hyperfibrinolyse zur Folge haben soll, die ihrerseits ein wichtiger Faktor in der Entstehung der cerebralen Mikrozirkulationsstörungen und Diapedeseblutungen ist (21,39), deutete LUDWIG die Abnahme der cerebralen Blutungsherde bei den Feten, deren Mütter Trasylol infundiert bekommen hatten, als Trasyloleffekt. Nach Trasylolapplikation an schwangeren Frauen intra partum konnte LUDWIG (36,37) den Proteinase-Inhibitor im Nabelschnurblut der Kinder nachweisen.

Bei einem Molekulargewicht von 6 500 (3,19,29,31,62) erscheint der Durchtritt von Trasylol durch die Plazentarschranke nicht unwahrscheinlich, da mit Hilfe von Pinocytose die Plazentapassage von sogar noch höher molekularen Stoffen vonstatten geht. Auf Anregung von Herrn Professor H. Hoffbauer habe ich mir deshalb die Aufgabe gestellt,

einen Beitrag zur Klärung der Frage des diaplazentaren Übertritts des Proteinase-Inhibitors Trasylol zu leisten.

II. VORBEMERKUNGEN AUS DER LITERATUR

A. Biochemie und Pharmakologie des Proteinasen-Inhibitors Trasylol

Für den unter dem Handelsnamen Trasylol eingeführten Proteinasen-Inhibitor werden im wesentlichen Parotis und Lunge vom Rind aufgearbeitet (67). Trasylol ist ein basisches Polypeptid, das aus einer Kette von 58 Aminosäuren besteht (3,29,30,31). Sein Molekulargewicht beträgt etwa 6 500 (3, 19, 29,31,62). Der Wirkstoff des Trasylol wird biologisch standardisiert und in KIE (Kallikrein-Inhibitor-Einheiten) gemessen. 1 KIE ist als diejenige Inhibitormenge definiert, die nach zweistündigem Stehen bei pH 8 und Zimmertemperatur von zwei Kallikrein-Einheiten die Hälfte zu hemmen vermag (68). Trasylol hemmt Kallikrein (18,63), Trypsin (64, 69), Chymotrypsin (32,62) und die Gerinnungsfähigkeit des Blutes (1,2,13,44,47,49,54,59). Es greift hemmend in die Fibrinolyse ein (7,16,23,28,42,43,45,46,49,53,54,60,61,66). Seine antifibrinolytische Wirksamkeit beruht neben einer Hemmung der Aktivierung des Plasminogens vor allem auf einer Inhibition des proteolytisch aktiven Plasmins (43,45, 46,52,53). Nach intravenöser Injektion von Trasylol fällt dessen Konzentration im Blut in den ersten 30 Minuten rasch ab. Als Ursache gilt die Diffusion in die extravasalen Räume. Danach ist das langsamere Absinken der Konzentration allein durch die Elimination bedingt (6,11,28,64,70). Es

wird zum größten Teil als biologisch inaktives Abbauprodukt durch die Nieren ausgeschieden (6,28,64). Trasylol wird auch nach längerer Inkubationszeit bei 37° C nicht durch die Blutenzyme abgebaut (70). Aufgrund seines niedrigen Molekulargewichtes kommt es nach Trasylolapplikation nicht (47) oder nur selten (64) zur Sensibilisierung gegen diesen Inhibitor.

B. Physiologie der Fibrinolyse

In dieser Arbeit wird die Hemmung der fibrinolytischen Aktivität im Plasma bzw. Vollblut nach Trasylolapplikation als Beweis für das Vorhandensein des Inhibitors benutzt. Deshalb ist es notwendig, den Ablauf des fibrinolytischen Geschehens genau zu kennen.

Das bei der Gerinnung entstehende Fibrin wird durch ein spezifisches, proteolytisches Ferment, das Plasmin (Fibrinolysin), in Polypeptide gespalten. Das Plasmin ist in seiner inaktiven Vorstufe als Plasminogen (Profibrinolysin) im Blutplasma vorhanden. Die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin geschieht im Körper durch eine Fibrinolysokinase (Aktivator), die unter gewissen Umständen als plasmatische oder durch eine Gewebsläsion freiwerdende zelluläre Fibrinolysokinase im Blut auftritt. Unter noch nicht abgeklärten Bedingungen werden sogenannte Lysokinasen im Blutplasma in Freiheit gesetzt, welche die im Plasma vorhandene Profibrinolysokinase (Proaktivator) in Fibrinolysokinase umwandelt. Aus lädierten Körperzellen können auch Kinasen

in Freiheit gesetzt werden, die zum Teil Profibrinolysokinase in Fibrinolysokinase verwandeln, zum Teil Fibrinolysokinase-Charakter haben (15,58). Eine Umwandlung von Profibrinolysokinase in Fibrinolysokinase kann z.B. durch Heparin(oide), Histiolyso-kinasen, Bakterienlyso-kinasen (z.B. Streptokinase) und freigesetzte Haemo-Zytolyso-kinasen (z.B. aus Leukozyten) induziert werden (4,43). Das Plasminogen (Profibrinolysin) läßt sich auch direkt durch Fruchtwasser, Bakterienaktivatoren und Thrombine aktivieren (43).

Zur Hemmung der fibrinolytischen Aktivität gibt es eine Reihe im Blut vorkommender Inhibitorsubstanzen:

Als Antifibrinolysin 1 wird Fibrin bezeichnet, welches Plasminogen und Plasmin adsorbiert und vor allem letzteres aus der Blutbahn entfernt (41). Das Antifibrinolysin 2 ist ein labiles Serum-Albumin mit starker Wirkung (20). Als Antifibrinolysin 3 ist ein stabiles Serum-Globulin gefunden worden (25,58). Unter dem Begriff Antifibrinolysin 4 werden mehrere Trypsininhibitoren zusammengefaßt (34), von denen zwei rein dargestellt werden konnten. Es handelt sich dabei um die Glykoproteide α_1 -Antitrypsin (Progressiv-Antiplasmin) und α_2 -Antiglobulin (Sofort-Antiplasmin) (22,56). Schließlich wurde von JOHNSON, SMATHESS und SCHNEIDER ein Antifibrinolysin in den Blutplättchen gefunden (26).

C. Fibrinolyse in vitro

Die Testlösungen (Blut, Plasma) zur Bestimmung der fibrinolytischen Aktivität in vitro stellen ungereinigte Systeme

dar, d.h. sie enthalten im Gegensatz zu den gereinigten Systemen nicht nur Plasmin, sondern daneben auch Plasminogen, Aktivatoren (Profibrinolysekinase, Fibrinolysekinase) und Inhibitoren (Antifibrinolyse, Antifibrinolysekinasen) in meist unbekanntem Ausmaß. Das Endresultat der Fibrinolyse, aus allen diesen Faktoren hervorgegangen, kann am Substratabbau - dem Fibrinabbau - gemessen werden.

Durch Veränderung der Testlösung ist es möglich, bestimmte Fibrinolysefaktoren zu aktivieren, so daß eine normalerweise nicht meßbare, latente Fibrinolyse im Meßsystem erkennbar wird. Alle Maßnahmen zur Aktivierung der potentiellen Fibrinolyse, zwecks Verbesserung der Nachweismöglichkeit, verändern die Testlösung so, daß die Übersicht über die wirklich vorhandenen Verhältnisse im Fibrinolyse-System schwierig wird. Die Resultate von Meßsystemen mit künstlicher Aktivierung der Fibrinolyse müssen deshalb mit besonderer Vorsicht interpretiert werden. Da Vollblut bzw. Plasma keine oder nur eine geringe Spontanfibrinolyse zeigen, ist beim Arbeiten mit diesen Testsubstanzen meist eine künstliche Aktivierung, z.B. mit Streptokinase, angezeigt. Schon durch Verdünnung des Testsubstrates mit physiologischer Kochsalzlösung wird die Fibrinolyse aktiviert. Es ist noch weitgehend unklar, wie stark die die Fibrinolyse fördernden und hemmenden Faktoren durch die Verdünnung aktiviert oder gehemmt werden. Die Empfindlichkeit des so getesteten Fibrinolyse-Systems soll aber nicht wesentlich gebessert werden (40,58,67).

Streptokinase aktiviert in geeigneter Dosis fast momentan

die Profibrinolysokinase zu Fibrinolysokinase. Wird sie im Überschuß zugegeben, so wird sämtliches Plasminogen zu Plasmin umgewandelt. Man erzeugt deshalb durch Streptokinasezusatz eine maximal aktivierte Fibrinolyse. Für die Stärke der Fibrinolyse ist im Grunde genommen die Menge des verfügbaren Plasminogens entscheidend, da weniger als 1 % der Plasminogen-Plasminmenge als Plasmin vorliegt (58).

Die durch Streptokinase aktivierte Fibrinolyse (Profibrinolysinzeit) hat keine Korrelation mit der spontan vor sich gehenden Fibrinolyse (Fibrinolysinzeit) (58), da Antistreptolysine oft Verwirrung stiften sollen (17,57). Sie läßt sich durch Zusatz von Trasylol hemmen (28, 39,43,46).

Eine Möglichkeit, das Vorhandensein von Trasylol in einer Körperflüssigkeit nachzuweisen, liegt darin, die durch Streptokinase aktivierte fibrinolytische Aktivität in dieser Flüssigkeit vor und nach Trasylolapplikation zu bestimmen.

III. U N T E R S U C H U N G E N

A. Vorgehen

Die Eigenschaft der Fibrinolysehemmung des Proteinase-Inhibitors wurde zum indirekten Nachweis von Trasylol benutzt. Die fibrinolytische Aktivität wurde mit Hilfe des Plasminogens, der Euglobulinlysezeit und einer Fibrinplattenmethode gemessen. Die Literaturangaben und die Arbeitsanweisungen zu diesen Blutuntersuchungen sind im Abschnitt „Methodik der Blutuntersuchungen“ - III. D. - zu finden. Eine Änderung der Meßwerte im Sinne einer Verringerung der induzierten fibrinolytischen Aktivität wird als Beweis für das Vorhandensein von Trasylol angesehen.

Es wurden Vor- und Hauptuntersuchungen vorgenommen:

1. Voruntersuchungen:

1,1. Die Trasylolwirkung auf die fibrinolytische Aktivität bei nicht schwangeren Frauen wurde gemessen (4 Fälle):
Im Cubitalvenenblut, das vor der intravenösen Injektion von 100 000 KIE Trasylol und zehn sowie dreißig Minuten danach entnommen wurde, wurde die Stärke der Fibrinolyse mit der Bestimmung des Plasminogens, der Euglobulinlysezeit, der Euglobulinlysezeit mit Plasmazusatz und der Lysehofgröße im Fibrinplattentest objektiviert (Methodik s. III. D.).

1,2. Die fibrinolytische Aktivität im Nabelschnurblut von Kindern, deren Mütter ante partum Trasylol bekommen hatten und von Kindern, deren Mütter kein Trasylol appliziert worden war, wird verglichen.

Es wurde Nabelschnurblut gesunder Neugeborener sofort nach der Spontangeburt gewonnen. Darin wurde die fibrinolytische Aktivität mit Hilfe des Plasminogens, der Euglobulinlysezeit, der Euglobulinlysezeit mit Plasmazusatz und der Fibrinplattenmethode bestimmt (Methodik s. III. D.). In 7 Fällen erhielten die Mütter ante partum kein Trasylol. In 10 Fällen bekamen die Mütter drei Minuten bis drei Stunden ante partum eine intravenöse Trasylolinjektion von 100 000 KIE.

2. Hauptuntersuchungen:

Um konstante Zeiten zwischen der jeweiligen Trasylolinjektion und der Blutgewinnung beim Kind zu erhalten, wurde folgende Versuchsanordnung gewählt:

Den Kindern wurde unter der Geburt, nach der Methode von SALING (51), Blut aus der Kopfschwarte entnommen. Dann erhielten die Mütter Trasylol intravenös injiziert. Etwa dreißig Minuten nach der Trasylolinjektion wurde den Feten erneut Blut aus der Kopfschwarte entnommen. In beiden Blutproben wurde die mit Streptokinase aktivierte fibrinolytische Aktivität mittels der Fibrinplattenmethode bestimmt (Methodik s. III. D.) und die Differenz zwischen der Lysehofgröße der ersten und der zweiten Probe errechnet. Zum Vergleich wurde den Müttern einer anderen Gruppe kein

Trasylol appliziert. Den Feten wurde ebenfalls im Zeitabstand von dreißig Minuten Blut entnommen und die Differenz zwischen der Lysehofgröße der ersten und der zweiten Blutprobe ermittelt.

Es wurden drei Untersuchungsgruppen aufgestellt:

- 2,1. Die Mütter der untersuchten Feten erhielten kein Trasylol (15 Fälle).
- 2,2. Die Mütter der untersuchten Feten erhielten 100 000 KIE Trasylol intravenös injiziert (9 Fälle).
- 2,3. Die Mütter der untersuchten Feten erhielten 500 000 KIE Trasylol intravenös injiziert (29 Fälle).

B. Auswahl der Versuchspersonen

1. Voruntersuchungen:

- 1,1. Die erwachsenen Versuchspersonen waren gesunde, nicht schwangere Frauen.
- 1,2. Die vergleichenden Untersuchungen im Nabelschnurblut wurden bei normal verlaufenden Geburten vorgenommen. Die Mütter und ihre Kinder waren gesund.

2. Hauptuntersuchungen:

Gesunde Primi-, Pluri- und Multiparae unter der Geburt wurden als Versuchspersonen ausgesucht. Auf eine eventuelle Rh-Inkompatibilität wurde, soweit beim Kind keine Komplikationen auftraten, keine Rücksicht genommen.

2,1. In der Gruppe 2,1 (ohne Trasylolinjektion bei der Mutter, s.S. 13) wurden 11 Kinder durch Spontangeburt und 4 durch Vakuumextraktion entbunden.

Bei 13 Kindern betrug die APGAR-Ziffer 10. Ein Kind, durch Vakuumextraktion entbunden, hatte eine Minute nach der Geburt den APGAR-Wert 1, fünf Minuten nach der Geburt den Wert 7 und acht Minuten post partum die APGAR-Ziffer 10. In einem Fall lag eine Mangelgeburt von 2 250 g Geburtsgewicht mit APGAR 8 vor (s. Tab. 5).

2,2. In der Gruppe 2,2 (100 000 KIE Trasylol, s.S. 13) wurden 7 Kinder durch Spontangeburt und 2 durch Vakuumextraktion entbunden. Die APGAR-Ziffern lagen zwischen 8 und 10. 2 Kinder wogen unter 3 000 g (s. Tab. 6).

2,3. In der Gruppe 2,3 (500 000 KIE Trasylol, s.S. 13) wurden 25 Kinder durch Spontangeburt und 4 durch Vakuumextraktion entbunden.

2 Kinder hatten die APGAR-Ziffer 7, je eines 5 und 6, die übrigen den Wert 10. Ein Kind hatte ein Geburtsgewicht von

2 900 g. In einem Fall war das Fruchtwasser grün, in zwei Fällen gelb. In zwei Fällen wurde die zweite Blutprobe bei den Feten kurz nach deren Geburt aus der Ferse entnommen. In diesen Fällen waren die Geburten 25 bzw. 30 Minuten nach der Trasylolinjektion (s. Tab. 7).

C. Gewinnung des Untersuchungsmaterials

1. Voruntersuchungen:

1,1. Bei den Erwachsenen wurde das Blut aus der Cubitalvene mit Hilfe einer silikonisierten Rekord-Spritze durch V₂A-Kanülen gewonnen. Dem Blut wurde Natriumzitrat (3,8 %) im Verhältnis 9 + 1 beigemischt.

1,2. Aus dem plazentaren Ende der durchtrennten Nabelschnur wurde das Blut direkt im Strahl ohne Kanüle in einem silikonisierten Reagenzglas aufgefangen, nachdem ein größerer Teil zuvor abgeflossen war.

2. Hauptuntersuchungen:

Die Blutentnahmen wurden in den drei Untersuchungsgruppen beim Nasciturus in der Eröffnungs- oder Austreibungsperiode, bei einer Muttermundsöffnung von drei und mehr Zentimeter, nach der Methode von SALING (51) vorgenommen:

Das Kapillarblut aus einer kleinen, künstlich gesetzten Wunde in der Kopfschwarte des Kindes wird in eine 20 cm

lange heparinisierte Glaskapillare (Firma L. Eschweiler & Co, Kiel), wie sie zur Haematokritbestimmung benutzt wird, gesaugt. Anschließend wird ein kleines magnetisches Metallstäbchen in die Kapillare geschoben und deren Enden mit einer Knetmasse verschlossen. Mit Hilfe eines Hufeisenmagneten läßt sich das Metallstäbchen in der Kapillare hin und her schieben, so daß das Blut gleichmäßig mit dem Heparin vermischt wird. So behandelt, läßt sich das Blut bei Zimmertemperatur, bis zur Weiterverarbeitung im Fibrinplattentest, aufbewahren.

Eine andere, 50 cm lange Kapillare (Firma K. Marggraf, Berlin), die in unserer Klinik zur Blutgewinnung für die Mikroblutuntersuchungen beim Feten dient, konnte für die Fibrinplattenmethode nicht verwendet werden, da keine Lysehöfe entstanden. Zur Hemmung der Blutgerinnung befand sich in dieser Kapillare ein heparinisierter Faden, der auf nicht näher bekannte Weise einen hemmenden Effekt auf die Fibrinolyse ausübte.

D. Methodik der Blutuntersuchungen

1. Voruntersuchungen:

- a. Profibrinolysinbestimmung (Plasminogen) in Anlehnung an die Methode von BELLER und REINHARDT (12).
- b. Bestimmung der Euglobulinlysezeit in Anlehnung an die Methode von MILSTONE (48).
- c. Bestimmung der Euglobulinlysezeit in Anlehnung an die

Methode von MILSTONE (48) mit Zusatz von Plasma.

- d. Fibrinplattentest in Anlehnung an die Methode von ASTRUP und MÜLLERTZ (5).

2. Hauptuntersuchungen:

Fibrinplattentest in Anlehnung an die Methode von ASTRUP und MÜLLERTZ (5).

1. Voruntersuchungen:

- a. Profibrinolysinbestimmung (Plasminogen) (s.S. 16)

Prinzip:

Profibrinolysin wird quantitativ bestimmt, indem nach Überführung in Fibrinolysin mittels Streptokinase die fibrinolytische Aktivität durch die Geschwindigkeit des Fibrinabbaus (mit Hilfe von Seesand) gemessen wird.

Reagenzien:

1000 E/ml Varidase (20 000 E Varidase, Lederle)

Thrombinlösung (60 NIH, Behring)

0,6 %-ige Rinderfibrinogenlösung (60 mg, Behring)

physiologische Kochsalzlösung

Seesand (Fa. Merck)

Herstellung der Lösungen:

Varidase:

Die Varidase (20 000 E, Lederle) wird erst in 4 ml

physiologischer Kochsalzlösung gelöst. 0,2 ml dieser Lösung werden mit 0,8 ml Michaelispuffer (pH=7,35) verdünnt, so daß eine Lösung mit 1000 E Streptokinase pro ml entsteht.

Thrombinlösung:

Ein Röhrchen Testthrombin (60 NIH, Behring) wird in 5 ml Michaelispuffer (pH=7,35) aufgelöst. Es entsteht eine Thrombinlösung mit 12 NIH/ml.

Rinderfibrinogen:

Ein Röhrchen Rinderfibrinogen (60 mg, Behring) wird in 10 ml Michaelispuffer (pH=7,35) aufgelöst. Es entsteht eine 0,6 %-ige Rinderfibrinogenlösung.

Technik:

Zu 0,1 ml Plasma gibt man 0,1 ml Streptokinase (entspr. 100 E) und läßt dies im Wasserbad bei 37° C genau 1 Minute aufeinander einwirken. Hierbei tritt eine verstärkte fibrinolytische Aktivität durch die Streptokinasezugabe auf. Nach 1 Minute verdünnt man mit 1,8 ml physiologischer Kochsalzlösung, fügt als Substrat 0,5 ml 0,6 %-iger Rinderfibrinogenlösung dazu und fällt das Gerinnsel mit 0,2 ml Thrombinlösung.

Stoppuhr sofort in Gang setzen. Man läßt das Gerinnsel 1 Minute bei Zimmertemperatur stehen und gibt es dann für 1 Minute in ein Wasserbad von 37° C. Nach diesen 2 Minuten fügt man dann mit Hilfe eines Trichters und eines Löffelchens ca. 80 mg Seesand hinzu.

Sobald der Seesand den Reagenzglasboden berührt, wird die Uhr abgestoppt, die Zeit abgelesen und an Hand einer Eich-

kurve in Prozent Profibrinolysin angegeben.

Normalwert: 100 %

b. Euglobulinlysezeit (s.S. 16)

Prinzip:

Die Euglobulinlyse gibt die Wirkung des vorhandenen Fibrinolysins ohne Hemmung der Albumin-Antifibrinolysine an. Dabei ist die Zeit bis zur totalen Auflösung des Eigenfibringerinnsels das Maß für die spontane Euglobulinfibrinolyse.

Reagenzien:

Aqua dest.

1 %-ige Essigsäure

Michaelispuffer (pH=7,35)

Thrombinlösung (60 NIH, Behring) - Herstellung s.S. 18
m/40 Kalziumchloridlösung

Technik:

15 ml Aqua dest. werden mit 0,32 ml einer 1 %-igen Essigsäurelösung angesäuert und für mindestens eine Stunde im Kühlschrank gekühlt. Danach gibt man 1 ml Patientenplasma dazu und stellt dieses Gemisch 15 Minuten in den Kühlschrank. Während dieser Zeit fallen sämtliche Fibrinolysefaktoren mit den Euglobulinen aus, während die Albumin-Antifibrinolysine in Lösung bleiben. Danach füllt man dieses Gemisch in Zentrifugengläser und zentrifugiert 10 Minuten bei 1500 U./Min.. Der Überstand wird abgegossen. Der Satz enthält 30 - 60 % Euglobulinfraktion neben Fibrinogen und den Gerinnungsfaktoren. Das Auflösen des Satzes geschieht mit

4 ml Michaelispuffer. Bis zur Auflösung muß geschüttelt werden.

Euglobulinlyseansatz ohne Plasma:

- 1,0 ml Euglobulinauflösung
- + 1,0 ml Michaelispuffer (pH=7,35)
- + 0,5 ml Thrombinlösung
- + 0,5 ml m/40 Kalziumchloridlösung

Der Ansatz wird sofort gemischt und in ein Wasserbad von 37° C gestellt und die Uhrzeit notiert. Die Auflösung des sich gebildeten Fibringerinnsels wird nun beobachtet und die Uhrzeit bis zur totalen Auflösung gestoppt.

Die Zeitdauer bis zur Auflösung wird angegeben.

Normalwert: 2 - 4 Stunden

c. Euglobulinlysezeit mit Plasmazusatz:

Prinzip:

Durch Zugabe von Plasma werden die Albumin-Antifibrinolyse wieder zugeführt. Man erhält somit eine Hemmung des Euglobulinfibrinolyse. Dabei ist hier die Zeit bis zur totalen Auflösung des Eigenfibringerinnsels das Maß für die Euglobulinfibrinolyse plus der Eigenhemmung.

Technik:

Die Herstellung der Euglobulinfraktion s. S. 19.

Euglobulinlyseansatz mit Plasma:

- 1,00 ml Euglobulinauflösung
- + 0,05 ml Patientenplasma
- + 0,95 ml Michaelispuffer (pH=7,35)
- + 0,50 ml Thrombinlösung
- + 0,50 ml m/40 Kalziumchloridlösung

Weitere Verarbeitung s.S. 20.

Normalwert: 12 - 24 Stunden

d. Fibrinplattentest (s.S. 17)

Prinzip:

Die zu untersuchende Testlösung wird auf Rinderfibrinplatten geimpft und 20 Stunden im Brutschrank bei 37° C inkubiert. Der Flächeninhalt des an der Impfstelle auftretenden Lysehofs ist ein Maß für die Stärke der Fibrinolyse.

Reagenzien:

- physiologische Kochsalzlösung
- Thrombinlösung (60 NIH, Behring)
- 0,24 %-ige Rinderfibrinogenlösung (60 mg, Behring)
- 500 E/ml Streptokinase (20 000 E Varidase, Lederle)
- Michaelispuffer (pH=7,35)
- 0,2 m Kalziumchloridlösung
- 1 %-ige Essigsäure

Herstellung der Streptokinaselösung:

1 Röhrchen Varidase (20 000 E Varidase, Lederle) wird in 4 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst. 0,2 ml dieser Lösung werden mit 1,8 ml Michaelispuffer (pH=7,35) verdünnt,

so daß eine Lösung entsteht, die in 1 ml 500 E Streptokinase enthält.

Euglobulinauflösung:

Die Herstellung der Euglobulinauflösung s.S. 19.

Fibrinplattenherstellung:

1 Röhrchen Rinderfibrinogen (60 mg, Behring) wird in 25 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und zum Kühlen in einen Eisschrank gestellt. 2 Röhrchen Testthrombin (zu je 60 NIH, Behring) werden in 12 ml einer 0,2 m Kalziumchloridlösung aufgelöst und ebenfalls im Eisschrank gekühlt.

Saubere Petrischalen und Reagenzgläser werden im Eisschrank vorgekühlt.

2 ml Thrombin- CaCl_2 (20 NIH) und 4 ml 0,24 %-ige Fibrinogenlösung werden in ein vorgekühltes Reagenzglas ohne Luftblasenbildung gegeben, durch einmaliges vorsichtiges Umkippen gemischt und sofort in einer ebenen und vorgekühlten Petrischale ohne Luftblasenbildung verteilt. Nach 5 Minuten kann die Platte beimpft werden.

Testlösung:

0,01 ml Euglobulinauflösung

+ 0,01 ml Varidase (500 E Streptokinase/ml)

+ 0,01 ml Patientenplasma

Die Menge der aufzutragenden Testlösung beträgt 0,03 ml.

Die 0,1 ml Pipette wird vorsichtig bis dicht über die Fibrinplatte gebracht, 0,03 ml werden als Tropfen abgesetzt.

Die Platte wird ca. 20 Stunden bei 37° C inkubiert.

Auswertung:

Nach 20 Stunden Inkubationszeit werden zwei aufeinander

senkrecht stehende Durchmesser des Lysehofs mit einem Stechzirkel gemessen und der mittlere Durchmesser errechnet. Verlaufene Lysehöfe scheiden aus der Beurteilung aus. Die Hofgröße wird als Quadrat des mittleren Durchmessers in mm^2 angegeben.

Die Tropfengröße, die 25 bis 36 mm^2 beträgt, wurde von der eigentlichen Lysehofgröße nicht abgezogen, da dies an den Ergebnissen nichts geändert hätte und dies auch nicht üblich ist.

2. Hauptuntersuchungen:

Fibrinplattentest (s.S. 17)

Prinzip, Reagenzien, Fibrinplattenherstellung und Auswertung s.S. 21 bis 23. Zum Unterschied zu den Voruntersuchungen war bei den Hauptuntersuchungen die Testlösung anders zusammengesetzt.

Testlösung:

- 0,01 ml Vollblut
- + 0,01 ml Varidase (500 E Streptokinase/ml)
- + 0,01 ml physiologische Kochsalzlösung

E. Leistungsfähigkeit des Fibrinplattentests

Die Fehlergrenze der Methode liegt nach Messungen des Verfassers, bei der Lysehofgröße 850 mm^2 , bei $\pm 80 \text{ mm}^2$. Um diesen Fehler noch zu verkleinern, wurden bei den Untersu-

chungen in dieser Arbeit drei Parallelansätze mit einer Blutprobe gemacht, das arithmetische Mittel der mittleren Durchmesser der Lysehöfe bestimmt und als Meßresultat angegeben.

Auf der Fibrinplattenmethode läßt sich ein Fibrinolyse-Inhibitor-Nachweis aufbauen:

Wird der Testlösung statt 0,01 ml reiner physiologischer Kochsalzlösung 0,01 ml einer mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Trasylollösung zugesetzt, so ist die Lysehofgröße, sofern die anderen Faktoren im Ansatz konstant geblieben sind, direkt von der Konzentration der Inhibitorlösung abhängig. Durch Veränderung der beigemengten Trasylolkonzentration lassen sich verschieden starke Lysehemungen erzeugen. Es entstehen Kurven, die für eine Blutprobe die Lysehofgröße in Abhängigkeit von der Inhibitorkonzentration zeigen. Ein meßbarer Inhibitoreffekt, als ein Maß der Empfindlichkeit der Methode, ist bei 5 - 10 KIE/ml Trasylol vorhanden, dem entsprechen 0,05 - 0,1 KIE im Testansatz (s. dazu Abb. 1, Seite 25).

Wird mit unbekanntem Blut der Fibrinplattentest - einmal ohne und einmal mit Zusatz einer unbekannten Trasylolmenge - durchgeführt und die Lysehofgröße bestimmt, so läßt sich aus der Differenz zwischen den beiden Lysehofgrößen nicht auf die zugesetzte Trasylolkonzentration schließen.

Die Untersuchungsgruppe 2,1 (s.S. 13), bei der den Müttern kein Trasylol injiziert wurde, dient dazu, die spontanen Änderungen der Fibrinolyse zu erfassen. Folgende, die Fi-

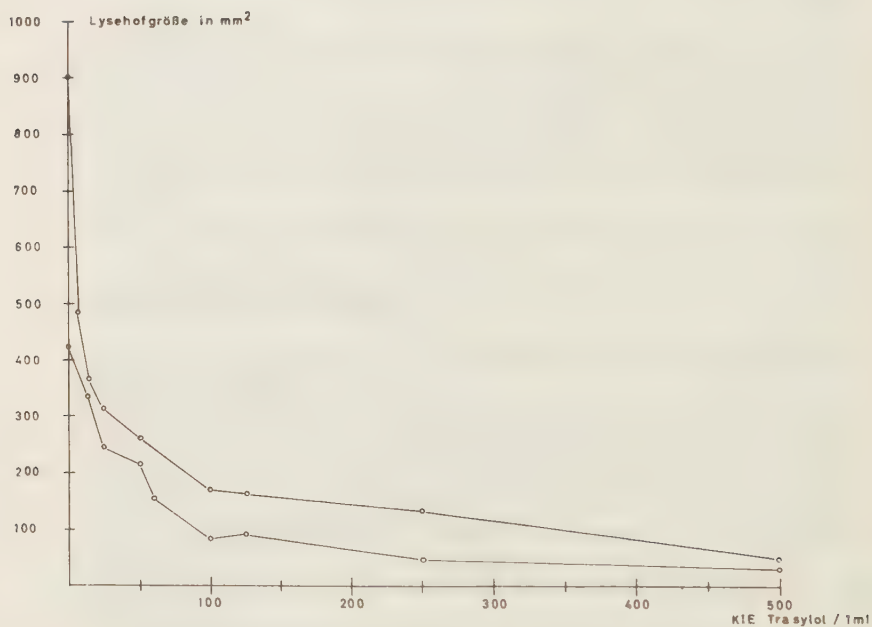


Abb.1. Lysehofgrößen bei verschiedenen Trasytolkonzentrationen in Blutproben zweier Probanden (in vitro).

brinolyse beeinflussende Faktoren, werden registriert:

Blutentnahme,

Fehler bei der Blutentnahme, wie Aspiration von Luft,

Fruchtwasser, Öl oder Schleim,

eventuelle Ungleichheiten der Kapillaren,

Ungenauigkeiten bei der Aufbereitung des Blutes und

Ungenauigkeiten bei der Fibrinplattenherstellung.

Alle diese Faktoren wirken sich in gleichem Maße auch auf die Ergebnisse der Untersuchungsgruppen 2,2 und 2,3 (s.S.

13) aus.

IV. U N T E R S U C H U N G S E R G E B N I S S E

A. Voruntersuchungen

1.1. Trasylolwirkung bei nicht schwangeren Frauen:

Die Wirkung einer intravenösen Trasylolapplikation von 100 000 KIE auf die fibrinolytische Aktivität des Blutes wurde bei erwachsenen, nicht graviden Frauen geprüft. Hierbei wurde die Stärke der Fibrinolyse vor und nach der Trasylolinjektion gemessen und beide Werte wurden miteinander verglichen.

Die Gegenüberstellung der Mittelwerte zeigt:

Zehn Minuten nach der Injektion sank das Plasminogen um 72 %. Die Euglobulinlysezeit zeigte eine Zunahme von 4 Stunden und 45 Minuten und die Euglobulinlysezeit mit Zusatz von Plasma war um 8 Stunden und 11 Minuten erhöht. Im Fibrinplattentest war eine Verringerung der Lysehofgröße um 309 mm^2 zu beobachten.

Dreißig Minuten nach Verabreichung von Trasylol war das Plasminogen um 57 % gesunken. Die Euglobulinlysezeit war um 5 Stunden und 25 Minuten verlängert und die Euglobulinlysezeit mit Plasmazusatz war um 8 Stunden und 5 Minuten erhöht. Die Lysehöfe waren gegenüber den Leerwerten im Durchschnitt um 6 mm^2 kleiner (s. Tabelle 1, S. 28).

Tabelle 1:

Die Tabelle zeigt die Änderung der fibrinolytischen Aktivität nach intravenöser Injektion von 100 000 KIE Trasylol bei nicht schwangeren Frauen. Es wurde vor der Trasylolapplikation (leer) und 10 und 30 Minuten danach aus der Cubitalvene Blut entnommen.

Methode	1.Fall	2.Fall	3.Fall	4.Fall	Mittelw.
Plasminogen					
Leer	140 %	135 %	205 %	175 %	163 %
10'	54 %	85 %	115 %	110 %	91 %
30'	85 %	75 %	140 %	115 %	104 %
Euglobulinlyse					
Leer	1h 35'	3h 00'	1h 25'	40'	1h 35'
10'	7h 30'	5h 10'	9h 30'	3h 10'	6h 20'
30'	7h 30'	7h 40'	9h 30'	3h 05'	7h 00'
Euglobulinlyse mit Plasmazusatz					
Leer	3h 55'	7h 45'	4h 15'	1h 35'	4h 28'
10'	10h 35'	13h 00'	21h 30'	5h 30'	12h 39'
30'	10h 35'	13h 00'	21h 30'	5h 10'	12h 34'
Fibrinplatte (mm ²)					
Leer	1 330	992	1 147	1 090	1 139
10'	784	957	1 054	209	830
30'	899	841	1 152	1 640	1 133

1,2. Ergebnisse im Nabelschnurblut:

Bei den Trasylolfällen ergab sich gegenüber den Leerfällen im Durchschnitt eine Zunahme des Plasminogens um 8,15 % und eine Verlängerung der Euglobulinlysezeit um 1 Stunde und 20 Minuten. Die Euglobulinlysezeit mit Zusatz von Plasma war um 41 Minuten verlängert und die Lysehofgröße verringerte sich bei den Trasylolfällen um durchschnittlich 208 mm² (s. Tabellen 2,3 und 4, S. 29 und 30).

Tabelle 2:

Vergleich der fibrinolytischen Aktivität (Mittelwerte) im Nabelschnurblut von 7 Kindern, deren Mütter kein Trasylol bekommen hatten und 10 Kindern, deren Mütter drei Minuten bis drei Stunden ante partum eine intravenöse Trasylolinjektion von 100 000 KIE erhalten hatten.

Methode	ohne	mit	Differenz
	Trasylol	Trasylol	
Plasminogen	10,6 %	18,75 %	8,15 %
Euglobulinlysezeit	3h 20'	4h 40'	1h 20'
Euglobulinlysezeit mit Plasmazusatz	6h 50'	7h 31'	41'
Fibrinplatte (mm ²)	1 032	824	208

Tabelle 3:

Fibrinolytische Aktivität im Nabelschnurblut.

Nr. Plasminogen Euglobulinlyse Euglob. mit Pl. Fibrinplatte				
1	14,5 %	5h 15'	8h 15'	702 mm ²
2	10,5 %	35'	1h 15'	783 mm ²
3	9,6 %	2h 00'	13h 00'	1 056 mm ²
4	8,0 %	40'	1h 25'	957 mm ²
5	8,5 %	3h 55'	9h 00'	1 120 mm ²
6	12,5 %	3h 45'	8h 30'	1 085 mm ²
7	10,8 %	20'	30'	1 521 mm ²

Tabelle 4:

Fibrinolytische Aktivität im Nabelschnurblut nach intravenöser Injektion von 100 000 KIE Trasylol bei der Mutter.

t ist die Zeit zwischen der Injektion und der Blutgewinnung, die sofort post partum vorgenommen wurde.

Nr.	t	Plasmino.	Euglob.	Eugl. mit Pl.	Fibrinplatte
1	40'	44,0 %	19h 30'	24h 00'	1 332 mm ²
2	4'	28,5 %	1h 50'	3h 50'	441 mm ²
3	16'	17,0 %	2h 40'	--	1 085 mm ²
4	10'	16,0 %	--	--	687 mm ²
5	13'	10,5 %	15'	25'	506 mm ²
6	4'	14,0 %	1h 20'	2h 20'	1 085 mm ²
7	33'	19,0 %	25'	35'	504 mm ²
8	35'	12,5 %	8h 35'	16h 00'	780 mm ²
9	3h 00'	12,5 %	4h 45'	9h 25'	961 mm ²
10	10'	13,5 %	1h 45'	3h 35'	884 mm ²

B. Hauptuntersuchungen

2.1. Untersuchungsgruppe ohne Trasyolol:

Die Lysehofgrößen variieren bei den einzelnen Feten stark. Die Werte nach dreißig Minuten liegen in der Nähe der Ausgangswerte (s. Abb. 3, S. 34). Ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den Lysehofgrößen der ersten und der zweiten Blutprobe konnte nach dem WILCOXON-Test für Paardifferenzen (14), bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 10 % nicht ermittelt werden.

Ein Kind, das mit der APGAR-Ziffer 1 geboren wurde, zeigte keine auffälligen Lysehofgrößen und keine sich von den anderen abhebende Lysehofdifferenz. Eine Mangelgeburt (APGAR-Ziffer 8) zeigte ebenfalls keine Unterschiede zu den anderen Probanden der Versuchsgruppe (s. hierzu Tab. 5, S. 33 und Abb. 3, S. 34).

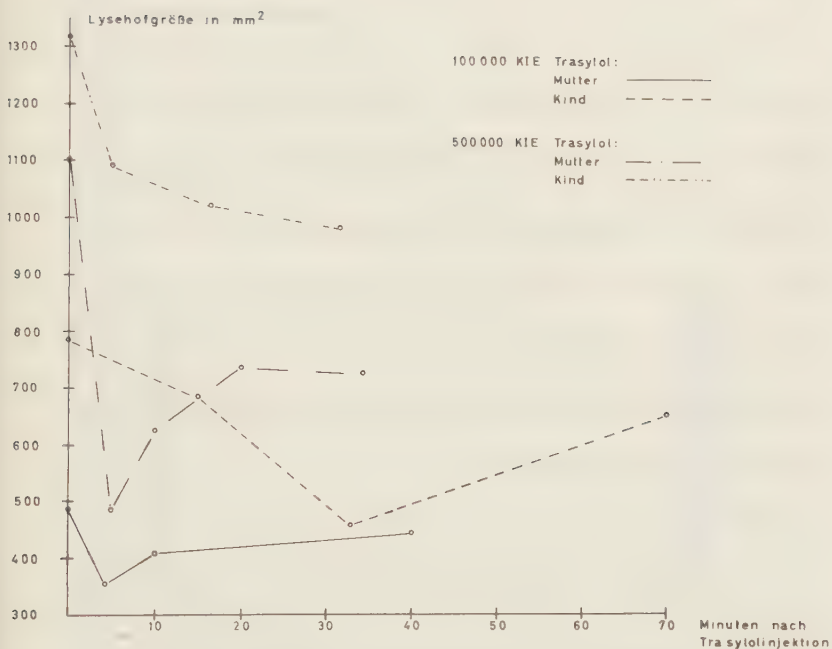


Abb. 2. Verhalten der fibrinolytischen Aktivität, ausgedrückt in der Lysehofgröße, nach Injektion von 100 000 KIE bzw. 500 000 KIE Trasylol bei der Mutter. Es wurde Venenblut der Mutter und Kapillarblut der Feten dieser Mütter untersucht.

Tabelle 5:

Übersicht zur Untersuchungsgruppe 2,1, in der die Mütter der untersuchten Feten kein Trasylol bekommen hatten. Die Stärke der Fibrinolyse wurde mit der Fibrinplattenmethode bestimmt (s.S. 23).

Abkürzungen: P = Para; Entb. = Entbindungsart (Sp = Spontangeburt, VE = Vakuum-Extraktion); G.-gew. = Geburtsgewicht in g; Leerw. = Lysehofgröße der ersten Blutprobe in mm^2 ; 30'-w. = Lysehofgröße der zweiten Blutprobe in mm^2 ; Diff. = Differenz der Lysehofgrößen zwischen den beiden Blutproben (Eine negative Differenz bedeutet einen kleineren Lysehof in der zweiten Blutprobe.); t = Zeit zwischen beiden Blutentnahmen, bzw. Zeit nach der Trasylolinjektion bis zur zweiten Blutentnahme.

Nr.	P.	Entb.	G.-gew.	APGAR	Leerw.	30'-w.	t	Diff.
1	I	Sp	2 250	8	412	430	25'	+ 18
2	II	Sp	3 000	10	492	436	30'	- 56
3	I	Sp	3 370	10	800	780	32'	- 20
4	I	VE	3 750	10	608	600	31'	- 8
5	I	VE	3 530	1	824	762	30'	- 62
6	I	Sp	4 070	10	1 260	1 160	30'	- 100
7	I	Sp	3 120	10	1 170	1 262	30'	+ 92
8	I	Sp	3 130	10	920	935	30'	+ 15
9	I	VE	3 730	10	396	305	30'	- 91
10	I	Sp	3 400	10	1 165	1 155	40'	- 10
11	II	Sp	2 930	10	1 060	1 045	33'	- 15
12	VII	Sp	3 950	10	920	940	30'	+ 20
13	II	VE	3 920	10	1 045	1 070	35'	+ 25
14	I	Sp	3 270	10	745	772	32'	+ 27
15	I	Sp	3 470	10	625	642	34'	+ 17

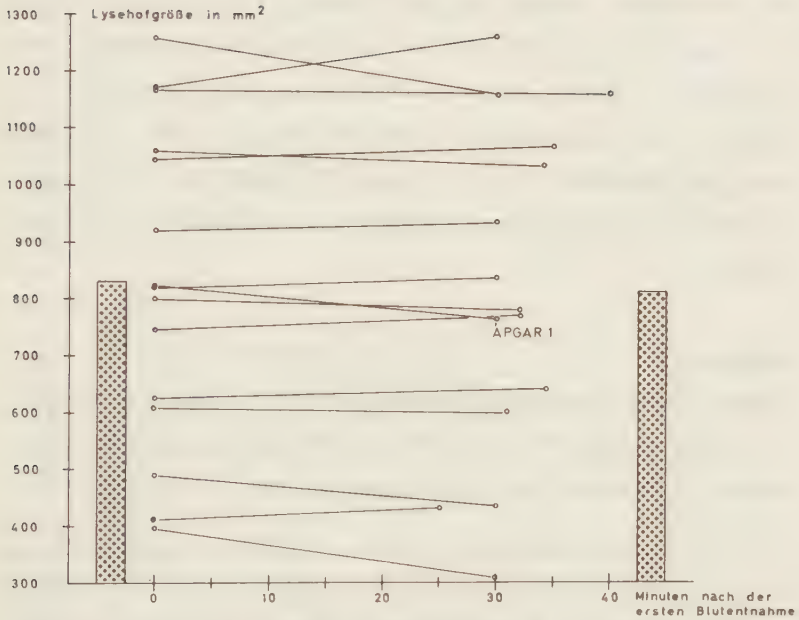


Abb. 3. Verhalten der fibrinolytischen Aktivität, ausgedrückt in der Lysehofgröße, im Kapillarblut von 15 Feten. Es wurden zwei Blutproben bei demselben Feten im Zeitabstand von ca. 30 Minuten entnommen. Die Säulen am Anfang und Ende der Kurven sollen die Änderung der Mittelwerte aller Anfangs- bzw. Endpunkte verdeutlichen.

2,2. Untersuchungsgruppe mit intravenöser Injektion von
100 000 KIE Trasylol bei der Mutter:

In vier Fällen wurden die Flächeninhalte der Lysehöfe nach der Trasylolinjektion deutlich kleiner. In den restlichen fünf Fällen, davon zwei Vakuumextraktionen, veränderten sich die Lysehofgrößen nur unwesentlich (s. Abb. 4, S. 36). Nach dem WILCOXON-Test für Paardifferenzen wird die Nullhypothese bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 10 % bestätigt.

Tabelle 6:

Übersicht zur Untersuchungsgruppe 2,2 , in der die Mütter der untersuchten Feten 100 000 KIE Trasylol i.v. bekommen hatten (Erklärung der Abkürzungen s. Tab. 5, S. 33).

Nr.	P.	Entb.	G.-gew.	APGAR	Leerw.	30'-w.	t	Diff.
1	I	Sp	2 790	10	882	625	30'	- 257
2	I	Sp	2 910	8	785	462	32'	- 323
3	I	Sp	3 910	10	1 120	900	34'	- 220
4	I	Sp	3 950	10	755	620	30'	- 135
5	I	VE	3 310	10	715	745	35'	+ 30
6	II	Sp	3 310	10	1 022	1 100	35'	+ 78
7	I	Sp	4 210	10	846	810	30'	- 36
8	I	Sp	3 670	10	625	680	30'	+ 55
9	I	VE	4 190	10	700	630	39'	- 70

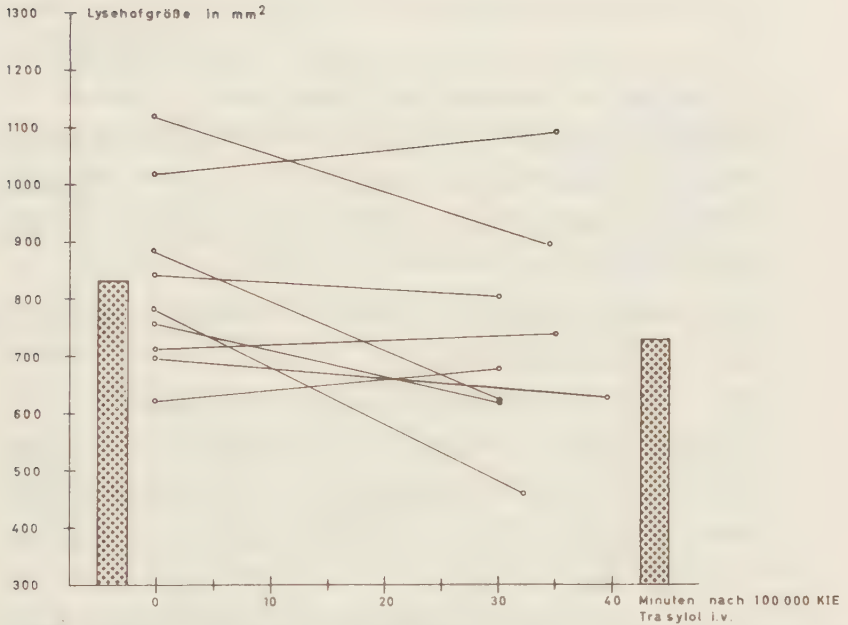


Abb 4 Verhalten der fibrinolytischen Aktivität, ausgedrückt in der Lysehofgröße, im Kapillarblut von 9 Feten, deren Mütter 100 000 KIE Trasylol i.v. injiziert bekommen hatten. Die erste Blutprobe wurde vor, die zweite ca. 30 Minuten nach der Trasylolapplikation entnommen. Die Säulen am Anfang und Ende der Kurven sollen die Änderung der Mittelwerte aller Anfangs- bzw. Endpunkte verdeutlichen.

2,3. Untersuchungsgruppe mit intravenöser Injektion von
500 000 KIE Trasylol bei der Mutter:

In 25 Fällen verkleinerten sich die Lysehöfe nach der Trasylolinjektion um mehr als 100 mm^2 . In der Mehrzahl der Fälle lag die Differenz der Lysehofgrößen zwischen $- 150 \text{ mm}^2$ und $- 250 \text{ mm}^2$. In zwei Fällen war das Fruchtwasser grün bzw. gelb. Der pH im fetalen Blut lag im Normbereich. Die Kinder wurden durch Spontangeburt entbunden (APGAR-Ziffer 10).

Der Verkleinerungsgrad der Lysehöfe war nicht von der Größe der Ausgangswerte abhängig.

Die restlichen vier Fälle zeigten Besonderheiten:

In zwei Fällen, bei denen die Kinder nach einer Vakuumextraktion bzw. einer Spontangeburt mit der APGAR-Ziffer 7 bewertet wurden, lagen die Differenzen der Lysehöfe bei $- 55 \text{ mm}^2$ bzw. $- 81 \text{ mm}^2$.

In einem Fall mit Rh-Inkompatibilität - Antikörper waren bei der Mutter nachgewiesen - war das Fruchtwasser gelb. Das Kind wurde durch Spontangeburt mit der APGAR-Ziffer 6 entbunden. Die Differenz der Lysehofgrößen betrug $+ 33 \text{ mm}^2$.

Bei einem Kind mit der APGAR-Ziffer 5, durch Spontangeburt entbunden, lag die Lysehofgrößendifferenz bei $- 79 \text{ mm}^2$. Der statistische Unterschied zwischen den Lysehofgrößen vor und nach der intravenösen Injektion von 500 000 KIE Trasylol ist nach dem WILCOXON-Test für Paardifferenzen

hoch signifikant. Die Nullhypothese muß bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von höchstens 0,001 % verworfen werden (Übersicht: Tabelle 7, S. 39 und Abb. 5, S. 40).

C. Nebenfunde

- a. Die in vitro Versuche (s. Abb. 1, S. 25), bei denen zwei Blutproben zweier Probanden mit steigenden Trasylolkonzentrationen versetzt wurden, zeigen eine Hemmung der Fibrinolyse, deren Ausmaß direkt von der Trasylolkonzentration abhängig ist. Der Proportionalitätsfaktor ist aber von Blutprobe zu Blutprobe verschieden. Die fibrinolytische Aktivität der Blutprobe, die im Plattentest einen großen Lysehof (900 mm^2) hervorrief, wurde durch Trasylolkonzentrationen bis 25 KIE wesentlich stärker beeinflusst, als die der anderen Blutprobe, deren Lysehofgröße nur ungefähr halb so groß war. Die in vivo Versuche (s. Abb. 4, S. 36 und Abb. 5, S. 40) lassen diesen Unterschied vermissen.
- b. Die stärkste Hemmung der Fibrinolyse trat im mütterlichen Blut direkt nach der Trasylolinjektion auf. Im kindlichen Blut wurde die fibrinolytische Aktivität maximal erst ungefähr dreißig Minuten nach der Trasylolinjektion bei der Mutter gehemmt (s. Abb. 2, S. 32).

Tabelle 7:

Übersicht zur Untersuchungsgruppe 2,3 , in der die Mütter der untersuchten Feten 500 000 KIE Trasylol i.v. bekommen hatten (Erklärung der Abkürzungen s. Tab. 5, S. 33).

Nr.	P.	Entb.	G.-gew.	APGAR	Leerw.	30'-w.	t	Diff.
1	II	Sp	3 750	10	1 320	980	32'	- 340
2	I	Sp	3 970	10	548	350	27'	- 198
3	I	Sp	3 380	10	895	634	30'	- 261
4	I	Sp	3 300	10	745	505	32'	- 240
5	I	Sp	3 100	10	882	646	32'	- 236
6	I	Sp	3 800	7	1 345	1 264	31'	- 81
7	II	Sp	3 840	10	780	550	25'	- 230
8	I	Sp	3 140	10	1 260	1 010	30'	- 250
9	I	Sp	3 600	9	600	316	32'	- 284
10	II	Sp	4 380	10	606	392	31'	- 214
11	I	Sp	4 350	10	1 010	596	30'	- 414
12	III	Sp	3 240	10	950	772	30'	- 178
13	I	Sp	3 820	10	1 355	1 109	29'	- 246
14	I	Sp	3 680	9	632	480	31'	- 152
15	I	Sp	4 000	10	769	490	32'	- 279
16	I	Sp	4 360	5	1 069	990	30'	- 79
17	I	Sp	4 150	10	920	740	32'	- 180
18	I	VE	3 250	7	380	325	31'	- 55
19	II	Sp	3 120	6	505	538	30'	+ 33
20	II	Sp	3 210	10	1 109	930	30'	- 179
21	I	Sp	3 880	10	1 142	960	40'	- 182
22	I	Sp	2 900	10	890	718	31'	- 172
23	I	Sp	3 250	10	1 225	1 014	30'	- 211
24	I	VE	3 680	10	841	660	30'	- 181
25	I	VE	3 050	10	766	600	32'	- 166
26	I	Sp	3 156	10	1 190	740	35'	- 450
27	II	Sp	3 800	10	830	625	32'	- 205
28	I	VE	3 150	10	755	510	30'	- 245
29	I	Sp	3 600	10	1 335	1 060	32'	- 275

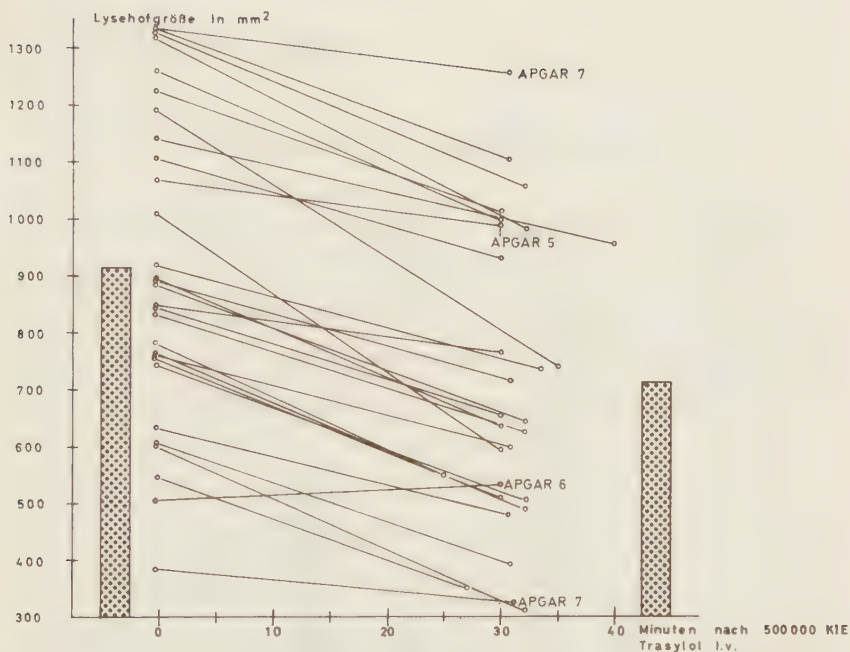


Abb. 5. Verhalten der fibrinolytischen Aktivität, ausgedrückt in der Lysehofgröße im Kapillarblut von 29 Feten, deren Mütter 500000 KIE Trasylol i.v. injiziert bekommen hatten. Die erste Blutprobe wurde vor, die zweite ca. 30 Minuten nach der Trasylolapplikation entnommen. Die Säulen am Anfang und Ende der Kurven sollen die Änderung der Mittelwerte aller Anfangs- bzw. Endpunkte verdeutlichen.

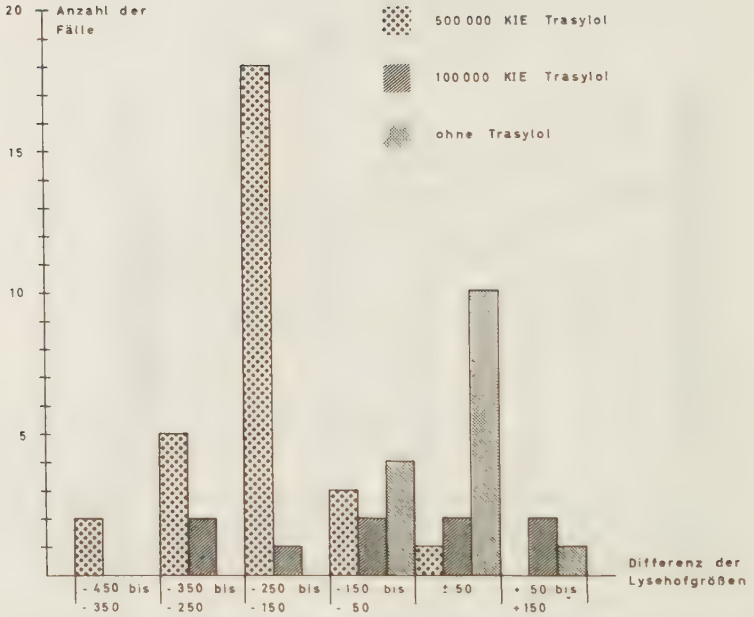


Abb. 6. Verhalten der Differenz der Lysehofgrößen zwischen der ersten und der zweiten Blutprobe, die ca. 30 Minuten nach der ersten beim Kind entnommen wurde.

V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

A. Voruntersuchungen

1.1. Trasylolwirkung bei nicht schwangeren Frauen:

Da die Trasylolkonzentration im Plasma nach intravenöser Injektion in den ersten dreißig Minuten rasch abfällt (64, 70), ist zu erwarten, daß die Fibrinolysehemmung zehn Minuten post injectionem stärker ist als nach dreißig Minuten. Die Plasminogenwerte und die Lysehofgrößen im Fibrinplattentest bestätigen diese Erwartung.

Dagegen zeigt sich bei den Euglobulinlysezeitmessungen nicht das erwartete Ergebnis, wenn man die Mittelwerte miteinander vergleicht. Die Gegenüberstellung der Einzelwerte ergibt, daß die Euglobulinlysezeit - mit sowie ohne Plasmapzusatz - zehn und dreißig Minuten nach der Trasylolinjektion in gleichem Maße verlängert ist. Es stellt sich die Frage, warum die fibrinolytische Aktivität nach dreißig Minuten ebenso stark wie nach zehn Minuten ist.

Da die Meßmethode keinen Ansatzpunkt für eine brauchbare Lösung dieser Frage liefert, erscheint es sehr wahrscheinlich, daß wegen der langen Beobachtungsdauer des Meßansatzes Ablesefehler entstanden sind. Dies ist um so wahrscheinlicher, als die Betrachtung der Einzelwerte der anderen Meßmethoden zeigt, daß die Zehn- und Dreißig-Minutenwerte dicht beieinander liegen. Auch Abb. 2, S. 32, zeigt

dies deutlich. Der Ablesefehler kann auch damit erklärt werden, daß die medizinisch-technische Assistentin wegen Personalmangels stark überfordert ist und daß der Spät- oder Nachtdienst diese Werte abgelesen hat.

1,2. Trasylol im Nabelschnurblut:

Die geringere Lysehofgröße, die längere Euglobulinlysezeit und die verlängerte Zeit der Euglobulinlyse mit Zusatz von Plasma im Nabelschnurblut der Kinder, deren Mütter Trasylol bekommen hatten, läßt sich auf die fibrinolysehemmende Wirkung des Proteinase-Inhibitors zurückführen.

Ein Vergleich der Plasminogenmittelwerte zeigt, daß die durch Streptokinase aktivierte fibrinolytische Aktivität im Nabelschnurvenenplasma d e r Neugeborenen größer ist, deren Mütter 100 000 KIE Trasylol i.v. injiziert bekommen hatten. Da der einzige Unterschied zwischen den beiden Untersuchungsgruppen darin besteht, daß nur die Mütter der einen Gruppe Trasylol bekommen hatten, sind nur zwei Möglichkeiten der Erklärung gegeben: Entweder ist der Unterschied zwischen den beiden Gruppen durch Trasylol bedingt oder es liegt ein Meßfehler vor. Eine Erklärung der ersten Möglichkeit ist zur Zeit nicht möglich.

Die Plasminogenwerterhöhung ist nicht erheblich; außerdem wurden nur sieben bzw. zehn Einzelmessungen durchgeführt. Deshalb können keine statistisch gesicherten Aussagen gemacht werden. Es war auch nicht Sinn der Voruntersuchungen, eindeutige Ergebnisse zu erhalten. Die Plasminogenwerte im

Nabelschnurvenenplasma scheinen schon normalerweise starken Schwankungen zu unterliegen. Dafür sprechen die von verschiedenen Autoren (8,24,33,55) angegebenen Plasminogenwerte, die um über 100 % von einander abweichen. Leider ließ sich aus der Literatur nicht ersehen, ob die Plasminogenbestimmung bei allen Autoren identisch war.

Die Voruntersuchungen sollten dem Auffinden einer möglichst genauen, wenig störanfälligen Testmethode dienen. Wegen der guten Ansprechbarkeit auf Trasylol und der sehr geringen Testblutmenge erschien dem Verfasser die Fibrinplattenmethode für die Hauptuntersuchungen, die die Frage der Plazentapassage von Trasylol klären helfen sollen, am geeignetsten.

B. Hauptuntersuchungen

1. Zur Plazentapassage von Trasylol:

Die Ergebnisse der Hauptuntersuchungen lassen eindeutig auf einen diaplazentaren Übertritt von Trasylol schließen. Die Plazentapassage läßt sich allerdings nur für die intravenöse Injektion von 500 000 KIE Trasylol statistisch sichern. LUDWIG (39) konnte im Tierexperiment den Durchtritt von Trasylol durch die Plazentarschranke bei verschiedenen Dosierungen beweisen. Er stellte fest, daß die Trasylolkonzentration im fetalen Plasma etwa ein Viertel so groß ist wie im Plasma des Muttertieres. Beim Menschen kam er zu ähnlichen Ergebnissen (36,37).

Die Arbeitsgruppe BELLER, EPSTEIN und KALLER (11) fand in zwei daraufhin untersuchten Fällen kein Trasylol im Nabelschnurblut. Bei den Müttern wurden allerdings Blutgerinnungsstörungen festgestellt. Die Gebärenden hatten ante partum eine Initialdosis von 100 000 KIE Trasylol intravenös erhalten und anschließend dieselbe Dosis in 60 Minuten per infusionem. Nach der Plazentageburt und Einstellung der Blutung wurde die Infusion abgebrochen. Der Trasylolnachweis im kindlichen Blut wurde mit der Methode nach WERLE und TRAUTSCHOLD (70) geführt. Die Autoren ziehen aus ihrer Beobachtung den Schluß, daß Trasylol die Plazentarschranke nicht durchdringe.

LUDWIG (39) gibt zu diesen Untersuchungen folgendes zu bedenken:

a. Es wurden nur Gebärende mit gestörter Hämostase untersucht. Gerinnungsstörungen treten aber häufig nach vorzeitiger Lösung der Plazenta auf, so daß nicht ausgeschlossen werden kann, ob bereits Passagestörungen durch vorzeitige Lösung eingetreten waren.

b. Die von der Arbeitsgruppe BELLER, EPSTEIN und KALLER benutzte Methode ist weniger empfindlich als die von ihm verwendete.

BELLER (9) berichtet über vier weitere Fälle, in denen die Mütter erst eine Initialdosis von 100 000 KIE Trasylol intravenös erhielten und anschließend 50 000 bis 100 000 KIE pro Stunde über einen Zeitraum von 1½ bis 7 Stunden. Bei den Müttern wurden zur Zeit der Geburt Trasylolkonzentrationen von 9 bis 12 KIE/ml Plasma gefunden, während im

Nabelschnurblut keine Aktivität nachweisbar war (Methode: Plasmininhibitorbestimmung in Flüssigkeiten). BELLER folgert, daß, selbst unter der Annahme einer Plazentapassage von Trasylol, die übergetretenen Mengen so gering waren, daß sie unter der Nachweisgrenze der Bestimmungsmethode lagen und biologisch bedeutungslos sein dürften.

Wie Abb. 1, S. 25 und Abb. 2, S. 32 zeigen, ist die Änderung der Lysehofgröße von der Trasylolkonzentration im Vollblut abhängig. Es ist aber nicht möglich, vom Ausmaß der Lysehofänderung nach der Trasylolinjektion auf die Trasylolkonzentration im Blut zu schließen. Trotz dieser Vorbehalte kann festgestellt werden, daß Trasylol beim Feten in seiner vollen Wirkung verzögert erscheint (s. Abb. 2, S. 32). Der Wirkungsverlust bzw. die Abbaugeschwindigkeit scheinen geringer als bei der Mutter zu sein. Diese letzte Feststellung ließe sich mit einem geringeren Dosisabfall im fetalen Blut erklären, der auch von LUDWIG (39) im Tierexperiment beobachtet wurde.

2. Trasyloleffekt bei asphyktischen Kindern:

Auffällig ist, daß im Blut von vier Kindern mit den APGAR-Ziffern 5, 6, 7 und 7 aus der Untersuchungsgruppe 2,3, in der die Mütter 500 000 KIE Trasylol bekamen, kein oder ein sehr geringer Trasyloleffekt nachgewiesen werden konnte. Da die zweiten Blutproben bei diesen Kindern innerhalb der letzten 30 Minuten vor der Geburt entnommen wurden, stellt sich die Frage, ob zwischen den Ergebnissen der Fibrinoly-

sebestimmung und den erniedrigten APGAR-Ziffern ein Zusammenhang besteht.

Im Gegensatz dazu zeigte ein Kind mit der APGAR-Ziffer 1 aus der Untersuchungsgruppe 2,1 (ohne Trasylol) keine auffällige Lysehofdifferenz. Die letzte Blutentnahme wurde in diesem Fall zwei Stunden ante partum vorgenommen. Zu dieser Zeit gab es noch keine Anzeichen für eine Gefährdung des Feten. LUDWIG fand bei perinataler Asphyxie sowohl im Tierexperiment (39) als auch bei Untersuchungen am Menschen (37) vermehrte Fibrinospaltprodukte im Nabelschnurblut. Das endogene Fibrinolyse-Inhibitor-Potential (α_1 -Antitrypsin und α_2 -Makroglobulin) war erniedrigt. Er folgerte daraus, daß bei hypoxiegeschädigten Neugeborenen die Steigerung der fibrinolytischen Aktivität durch einen Abfall des natürlichen Fibrinolyse-Inhibitor-Potentials zustande kommt.

Außerdem ist es LUDWIG im Tierexperiment gelungen (39), durch künstlich hervorgerufene Hypoxie im fetalen Gehirn Mikrozirkulationsstörungen und Diapedeseblutungen zu erzeugen, an deren Zustandekommen im wesentlichen eine gesteigerte Fibrinolyse beteiligt sein soll. Durch prophylaktische Trasylolgaben an das Muttertier wurde ein Hemmeffekt auf die Entstehung der cerebralen Asphyxieblutungen erzielt, der so gewertet wurde, daß Trasylol in biologisch wirksamer Dosis die Plazentarschranke durchtrete. Durch die Dämpfung der Hyperfibrinolyse seien die Diapedeseblutungen verringert bzw. verhindert worden.

Ob in den vom Verfasser beobachteten vier Fällen eine durch

Asphyxie verursachte Förderung der Fibrinolyse vorhanden war, ist auf Grund fehlender zusätzlicher Untersuchungen nicht zu klären. Das Gleichbleiben der Lysehofgrößen nach der Trasylolinjektion kann in diesen vier Fällen verschiedene Gründe haben. Zwei davon sollen aufgeführt werden:

a. Es können Meßfehler vorgekommen sein.

b. Nach der ersten Blutentnahme kann eine durch Asphyxie ausgelöste Hyperfibrinolyse mit vermehrter Bildung von Plasminogen und Plasmin entstanden sein. Im Fibrinplattentest hätte man in diesem Falle in den zweiten Blutproben größere Lysehöfe als in den ersten Blutproben beobachten können.

Nach Trasylolgaben zeigte sich aber immer eine Lysehofverkleinerung. Es ist zu erwarten, daß diese auch hier eintreten würde. Die hypothetischen Lysehofvergrößerungen und Lysehofverkleinerungen könnten sich aufheben, so daß keine Lysehofgrößenänderung zu messen gewesen wären.

Es läßt sich nicht beweisen, daß eine einmalige intravenöse Gabe von 500 000 KIE Trasylol an die Mutter hyperfibrinolytische Zustände beim Feten hemmt. Andere Untersuchungen müssen die Frage beantworten helfen, ob Trasylol die Asphyxieschäden vermindern kann.

3. Dosierung:

Mit der Fibrinplattenmethode konnte der diaplazentare Übertritt von Trasylol nur bei einer intravenösen Injektion von 500 000 KIE als statistisch gesichert angesehen werden.

Nach einer einmaligen intravenösen Injektion von 100 000 KIE Trasylol ist die Plazentapassage fraglich. Diese Ergebnisse lassen die von LUDWIG (35,38) angegebene Dosierung als zu niedrig erscheinen. Er empfiehlt eine Infusion von 2 000 KIE/kg Körpergewicht der Kreißenden auf eine Zeit von 20 Minuten vor dem Partus und für die Anschlußinfusion (21. bis 40. Minute) die Hälfte dieser Dosis.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die hemmende Wirkung des Proteinasen-Inhibitors Trasylol auf die Fibrinolyse wurde bei nicht schwangeren Frauen mit Hilfe vier verschiedener Methoden getestet.

In zwei weiteren Untersuchungsreihen wurde der Versuch unternommen, nach einer Trasylolinjektion bei der Mutter, Trasylol im Nabelschnurblut bzw. fetalen Kapillarblut indirekt nachzuweisen. Dazu wurde die fibrinolytische Aktivität in den Blutproben bestimmt. Eine Änderung der Meßwerte im Sinne einer Verringerung der durch Streptokinase induzierten fibrinolytischen Aktivität wurde als Beweis für das Vorhandensein von Trasylol angesehen.

Die mit dem Fibrinplattentest ausgeführten Blutuntersuchungen im fetalen Kapillarblut ergaben:

1. keine signifikante Änderung der mit Streptokinase aktivierten fibrinolytischen Aktivität in zwei Blutproben, die im Abstand von 30 Minuten beim Feten entnommen wurden;
2. keine statistisch gesicherte Änderung der Lysehofgröße nach einer intravenösen Injektion von 100 000 KIE Trasylol bei der Mutter;
3. eine hoch signifikante Abnahme der Lysehofgröße nach einer intravenösen Injektion von 500 000 KIE Trasylol bei der Mutter.

Es wird gefolgert, daß die Abnahme der fibrinolytischen Aktivität im kindlichen Blut auf die Trasylolinjektion bei der Mutter zurückgeführt werden kann. Bei einer einmaligen intravenösen Injektion von 500 000 KIE Trasylol scheint der

Proteinasen-Inhibitor die Plazenta in nachweisbarer Konzentration zu passieren.

Vier Fälle von perinataler Asphyxie, bei denen die Mütter 500 000 KIE Trasylol i.v. bekommen hatten, wurden diskutiert.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Amris, C.J.: Inhibition of thromboplastic activity by Trasylol. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. S. 52-62. Schattauer, Stuttgart 1966.
2. Amris, C.J., M. Hilden: Anticoagulant effect of Trasylol: In vitro and in vivo studies. Ann. N.Y. Acad. Sci., 146, No. 2: 612-624 (1968).
3. Anderer, F.A., S. Hörnle: Strukturuntersuchungen am Kallikrein-Inaktivator aus Rinderlunge. I. Molekulargewicht, Endgruppenanalyse und Aminosäuren-Zusammensetzung. Z. Naturforsch. 20b: 457-462 (1965).
4. Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. Blood 11: 781-806 (1956).
5. Astrup, T., S. Müllertz: The fibrinplate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. Biochem. Biophys. 40: 346-351 (1952).
6. Auhagen, J.: Verteilung und Elimination von Trasylol bei der Maus. Dissertation. Med. Akademie Düsseldorf, 1964.
7. Beck, E., R. Schmutzler, F. Duckert: Inhibition of fibrinolysis and fibrinogenolysis in man: Comparison of epsilon-amino-capronic acid and kallikrein-inhibitor. Thrombos. Diathes. haemorrh. 10: 106-119 (1963).
8. Beller, F.K.: Die Gerinnungsverhältnisse bei der Schwangeren und beim Neugeborenen. J.A. Barth, Leipzig (1957).

9. Beller, F.K.: Diskussionsbeiträge: Zur Frage der Trasyllol-Bestimmung im Blut. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasyllol-Therapie. S. 162. Schattauer, Stuttgart 1966.
10. Beller, F.K., M.D. Epstein: Indications and rationale for the use of proteinase inhibitor in obstetrics. Ann. N.Y. Acad. Sci., 146, No. 2: 673-679 (1968).
11. Beller, F.K., M.D. Epstein, H. Kaller: Distribution, half life time and placental transfer of the proteinase inhibitor Trasyllol. Thrombos. Diathes. haemorrh. 16: 302-310 (1966).
12. Beller, F.K., U. Reinhardt: Antifibrinolysebestimmung. In: Jürgens, J., F.K. Beller: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse. S. 254-255. Thieme, Stuttgart 1959.
13. Blombäck, B., M. Blombäck, P.I. Olsson: Action of a proteolytic enzyme inhibitor on blood coagulation in vitro. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasyllol-Therapie. S. 33-43. Schattauer, Stuttgart 1966.
14. Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen, 7. Aufl., S. 128.
15. Elsner, P.: Fibrinolyse in der Schwangerschaft und Geburt. Fortschr. Geburtsh. Gynäk. 6: Fasc. 16, Karger, New York/Basel 1957.
16. Encke, A., K. Schimpf, B. Kommerell, K.H. Grötzinger, H. Gilsdorf, M. Wanke, H.G. Lasch: Veränderungen der

- Blutgerinnung bei der akuten experimentellen Pankreatitis des Hundes. Klin. Wschr. 44: 90-95 (1966).
17. Flute, P.T.: The assessment of fibrinolytic activity in the blood. Brit. Med. Bull. 20: 195-199 (1964).
18. Frey, E.K., H. Kraut: Ein neues Kreislaufhormon und seine Wirkung. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 133: 1-56 (1928).
19. Fritz, H., I. Trautschold, E. Werle: Bestimmung der Molekulargewichte von neuen Trypsin-Inhibitoren mit Hilfe der Sephadex-Gelfiltration. Z. physiol. Chem. 342: 253-263 (1965).
20. Grob, D.: Further studies on protein, polypeptide and other inhibitors of serum proteinase, leucoproteinase, trypsin and papain. J. gen. physiol. 33: 103-124 (1950).
21. Haupt, H.: Störungen der Blutgerinnung infolge perinataler Hirnschädigung. Dtsch. med. Wschr. 90: 1473-1477 (1965).
22. Heimbürger, N., H. Haupt: Zur Spezifität der Antiproteinasen des Humanplasmas für Elastase. Klin. Wschr. 44: 1196-1199 (1966).
23. Hoffbauer, H.: Hyperfibrinolytische Blutungen in der Geburtshilfe und Gynäkologie. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Thrombolyse-Therapie. S. 99-110. Schattauer, Stuttgart 1966.
24. Huke, W.: Studien zur Blutgerinnung und Fibrinolyse sub partu. Inaug. Diss. München (1966).
25. Jacobson, K.: Electrophoretic demonstration of two

- trypsin inhibitors in human blood serum. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5: 97 (1953).
26. Johnson, Sh.A., Ch.L. Schneider: The existence of antifibrinolysin activity in platelets. Science 117: 229-230 (1953).
27. Jürgens, J., H.K. Beller: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse. Thieme, Stuttgart 1959.
28. Kaller, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkungsdauer und Elimination von Trasylol. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmac. 246: 92f (1963).
29. Kassell, B., M. Radicevic, S. Berlow, R.J. Peansky, M. Laskowski: The basic trypsin inhibitor of bovine pancreas. J. biol. Chem. 238: 3274-3279 (1963).
30. Kraut, H., N. Bhargava: Versuche zur Isolierung des Kallikrein-Inaktivators aus Rinderlunge und seine Identifizierung mit dem Inaktivator aus Rinderparotis. Z. physiol. Chem. 338: 231-237 (1964).
31. Kraut, H., N. Bhargava, F. Schultz, H. Zimmermann: Versuche zur Isolierung des Kallikrein-Inaktivators, IV. Kristallisation und Aminosäurezusammensetzung, Vergleich mit dem Trypsin-Inhibitor von Kunitz und Northrop. Z. physiol. Chem. 334: 230-235 (1963).
32. Kraut, H., R. Körbel-Enkhardt: Das Verhalten des Kallikrein-Inaktivators aus Rinderparotis gegenüber proteolytischen Fermenten. Leistungen und Ergebnisse der neuzeitlichen Chirurgie. S. 62-68, Thieme, Stutt-

gart 1958.

33. Künzer, W.: Zur Physiologie der Blutgerinnung bei Neugeborenen. Antrittsvorlesung. In: Keller, W. und W. Künzer: Zwei Vorlesungen zur Einweihung des neuen Hörsaals der Universitätskinderklinik Freiburg i. Br., S. 39-71, Thieme, Stuttgart 1964.
34. Laskowski, M., M. Laskowski jr.: Naturally occurring trypsin inhibitors. *Advances in Protein. Chem.* 9: 203-242 (1954).
35. Ludwig, H.: Perinatale Hirnblutungen bei Hypoxie und ihre Unterdrückung. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. S. 76-89, Schattauer, Stuttgart 1966.
36. Ludwig, H.: Discussion. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 146, No. 2, S. 679-681 (1968).
37. Ludwig, H.: Zur Anwendung von Trasylol in der Geburtshilfe und Gynäkologie. In: R. Marx, H. Imdahl, G.L. Haberland: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie 2. S. 115-127, Schattauer, Stuttgart 1968.
38. Ludwig, H.: Pathologie und Prophylaxe der fetalen Erstickungsblutung. *Fortschr. Med.* 17: 737-741 (1968).
39. Ludwig, H.: Mikrozirkulationsstörungen und Diapedeseblutungen im fetalen Gehirn bei Hypoxie. Karger, Basel/New York 1968.
40. Lüscher, E.F.: Diagnostik der Fibrinolyse. In: Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse. V. Hamburger Symposium über Blutgerinnung 1962. S. 15-25,

Schattauer, Stuttgart 1963.

41. MacFarlane, R.G., R. Biggs: Fibrinolysis. Its mechanism and significance. Blood 3: 1167-1187 (1948).
42. Marx, R.: Erkrankungen mit Mangel an Faktor I oder IV. In: Koagulopathien, IV. Hamburger Symposion über Blutgerinnung 1961. S. 40-47, Schattauer, Stuttgart 1962.
43. Marx, R.: Wirkungsweise der Fibrinolytika und Antifibrinolytika. In: Experimentelle und therapeutische Fibrinolyse. V. Hamburger Symposion über Blutgerinnung 1962. S. 27-40, Schattauer, Stuttgart 1963.
44. Marx, R.: Kallikreininhibitoren als Gerinnungshemmstoffe. In: R. Marx, H. Imdahl, G.L. Haberland: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie 2. S. 89-98, Schattauer, Stuttgart 1968.
45. Marx, R., P. Clemente, E. Werle, W. Appel: Zum Problem eines Antidots in der internen Thrombotherapie mit Fibrinolytika. Blut 5: 367-375 (1959).
46. Marx, R., P. Clemente, E. Werle, W. Appel: Über die Wirkung von Proteinaseinhibitor-Präparaten (Leber- und Parotisinhibitor) auf die extravasale Fibrinolyse und Blutgerinnungskonstanten im Menschenblut. Blut 9: 164-181 (1963).
47. Matis, P.: Wirkungen von Trasylol auf Blutgerinnung und Wundheilung. In: R. Marx, H. Imdahl, G.L. Haberland: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie 2. S. 19-38, Schattauer, Stuttgart 1968.

48. Milstone, H.: Factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis. J. Immunol. 42: 109-116 (1941).
49. Nordström, S., B. Blombäck, M. Blombäck, P. Olsson: Experimental investigations on the antithromboplastic and antifibrinolytic activity of Trasylol. Ann. N.Y. Acad. Sci., 146, No. 2, S. 701-711 (1968).
50. Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden. S. 216, 312-314. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York 1968.
51. Saling, E.: Das Kind im Bereiche der Geburtshilfe. S. 88-118. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1966.
52. Schmutzler, R.: Methodik der Differenzierung hyperfibrinolytischer Zustände und antifibrinolytischer Wirkungen. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. S. 20-32, Schattauer, Stuttgart 1966.
53. Schmutzler, R., E. Beck: Die Wirkung von Epsilon-Aminokapronsäure und Trasylol auf die Fibrinolyse. Schweiz. med. Wschr. 92: 1368-1370 (1962).
54. Schmutzler, R., H. Fürstenberg: Fibrinolyse und Blutverlust nach Prostata-Operationen und deren Beeinflussbarkeit durch Antifibrinolytika. Dtsch. med. Wschr. 91: 297-303 (1966).
55. Schwalm, H.: Fibrinogen und Fibrinolyse in der Geburtshilfe (Kongreßbericht). Zbl. Gynäk. 78: 42 (1956).
56. Schwick, H.G., N. Heimbürger, H. Haupt: Antiproteina-

- sen des Humanserums. Z. Ges. Inn. Med. 21: 193-198 (1966).
57. Sherry, S., A.P. Fletscher, N. Alkjaersig: Fibrinolysis and fibrinolytic activity in man. Physiol. Review 39: 343-382 (1959).
58. Stamm, H.: Einführung in die Klinik der Fibrinolyse. Karger, Basel/New York 1962.
59. Steichele, D.F.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Trypsin-Kallikrein-Inhibitors Trasylol auf die Kontaktaktivierung des Blutes. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. S. 71-75, Schattauer, Stuttgart 1966.
60. Steichele, D.F., H.J. Herschlein: Zur antifibrinolytischen Wirkung des Trypsin-Kallikrein-Inaktivators. Med. Welt 42: 2170-2172 (1961).
61. Steichele, D.F., H.J. Herschlein: Klinik und Therapie der durch Fibrinolyse und Fibrinogenolyse hervorgerufenen Blutungen. Med. Welt 43: 141-143 (1962).
62. Trautschold, I.: Enzyme und Inhibitoren der Bildung und des Abbaus gefäßaktiver Polypeptide (Kinine). Habilitationsschrift, Med. Fakultät München 1965.
63. Trautschold, I., E. Werle: Spektrophotometrische Bestimmung des Kallikreins und seiner Inaktivatoren. Z. physiol. Chem. 325: 48-59 (1961).
64. Trautschold, I., E. Werle, H. Fritz: Zur Biochemie des Trasylol. In: R. Gross und G. Kroneberg: Neue Aspekte der Trasylol-Therapie. S. 3-20, Schattauer, Stuttgart 1966.

65. Ungar, G., S.H. Mist: Observations on the release of serum fibrinolysin by specific antigen, peptone and certain polysaccharides. J. exp. Med. 90: 39-51 (1949).
66. Verstraete, M., J. Vermylen, C. Vermylen, R.A. de Vreker: On the combined administration of streptokinase and pancreatic trypsin inhibitor. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttgart) 12: 391-395 (1965).
67. Vogel, R., I. Trautschold, E. Werle: Biochemie und Klinik. Natürliche Proteinase-Inhibitoren. Thieme, Stuttgart 1966.
68. Werle, E., B. Kaufmann-Boetsch: Über esteratische Wirkungen von Kallikrein und Trypsin und ihre Hemmung durch Kallikrein- und Trypsininhibitoren. Z. physiol. Chem. 319: 52-63 (1960).
69. Werle, E., L. Maier, E. Ringelmann: Hemmung von Proteinasen durch Kallikrein-Inaktivatoren. Naturwissenschaften 39: 328 (1952).
70. Werle, E., I. Trautschold: Bestimmung des Kallikrein-Inaktivators Trasylol im Blut und in Organen und seine Verteilung nach Injektionen. Münch. med. Wschr. 103: 773-775 (1961).

Danksagungen:

Ich möchte Herrn Professor H. Hoffbauer für die Überlassung des Themas dieser Arbeit danken sowie für die Unterstützung, die er mir bei der Durchführung der Dissertation zukommen ließ.

Für die Anleitung, die Versuchsergebnisse statistisch auszuwerten, bin ich Herrn Professor G. Fuchs sehr zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. med. W. Busch und Herrn Dr. med. O. Gaß sowie den Hebammen aus der Frauen- und Poliklinik der Freien Universität Berlin möchte ich für die Hilfe, die sie mir bei den Blutentnahmen im Kreißsaal leisteten, danken.

Mein besonderer Dank gilt Frau M. Reiher für die Ratschläge und die Unterstützung bei den Laborarbeiten.

Lebenslauf

Am 4. Juni 1944 wurde ich als viertes Kind des Heizungsin-
genieurs Erich Dobbeck und seiner Ehefrau Hildegard in Kurt-
schlag, bei Berlin, geboren. Mein Vater fiel im April 1945.
Meine drei Geschwister und ich wuchsen unter der Obhut
meiner Mutter und Großmutter auf.

Von 1950 bis 1956 besuchte ich die 6. Grundschule in Berlin-
Reinickendorf und anschließend den mathematisch - naturwis-
senschaftlichen Zug der Friedrich - Engels - Schule in
Berlin. Am 4. März 1963 bestand ich nach dreizehn Schuljah-
ren das Abitur.

Bis zum Studienbeginn arbeitete ich als Hilfspfleger. Im
Wintersemester 1963/64 begann ich das Studium der Medizin
an der medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.
Die ärztliche Vorprüfung legte ich im Juli 1966 an der FU-
Berlin ab. Am 19. März 1970 beendete ich die ärztliche Prü-
fung an der Freien Universität Berlin mit der Gesamtnote
gut.

Seit April 1970 arbeite ich als Medizinalassistent. Im Mai
1970 habe ich geheiratet.

